

UC Irvine

UC Irvine Previously Published Works

Title

Model of structuring the stem cell niche in shoot apical meristem of Arabidopsis thaliana.

Permalink

<https://escholarship.org/uc/item/9931f4nt>

Journal

Doklady biological sciences : proceedings of the Academy of Sciences of the USSR,
Biological sciences sections, 452(1)

ISSN

0012-4966

Authors

Nikolaev, SV
Zubairova, US
Penenko, AV
et al.

Publication Date

2013-09-01

DOI

10.1134/s0012496613050104

Peer reviewed

Модель регуляции структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега***Arabidopsis thaliana****С.В. Николаев¹, У.С. Зубаирова¹, А.В. Пененко²,**Е. D. Mjolsness³, В. E. Shapiro⁴, академик РАН Н.А. Колчанов^{1,5,6}*¹Институт цитологии и генетики СО РАН, Новосибирск, Россия²Институт вычислительной математики и математической геофизики СО РАН, Новосибирск, Россия³Department of Computer Science, University of California, Irvine, California, USA⁴Department of Mathematics, California State University, Northridge, USA⁵Новосибирский госуниверситет, Новосибирск⁶Национальный исследовательский центр “Курчатовский институт”, Москва

Апикальная меристема побега (АМП) - одна из важнейших структур для роста и развития растений [1, 2]. В АМП принято различать перечисленные ниже функционально-анатомические зоны [3-4]. **(1)** Центральная зона (ЦЗ) - конусообразное скопление клеток, имеющее у *Arabidopsis thaliana* на поверхности АМП диаметр 6-8 клеток и сужающаяся вниз вдоль оси АПМ до 1-2 клеток на глубине 3-4 клетки от поверхности. ЦЗ образована стволовыми клетками, из которых происходят все клетки побега. **(2)** Периферическая зона (ПЗ) - кольцевая клеточная структура, окружающая ЦЗ и образованная клетками, происходящими из делящихся клеток ЦЗ. **(3)** Организационный центр (ОЦ) - скопление клеток глубиной в 2-3 и диаметром в 3-4 клетки, расположенных непосредственно снизу под ЦЗ и происходящих из её делящихся клеток. Также в АМП выделяют следующие слои клеток: **L1** – наружный слой клеток, **L2** – второй слой клеток, **L3** – условно называется третьим слоем (корпусом), хотя фактически в результате того, что клетки, находящиеся ниже второго слоя делятся во всех плоскостях, это уже не слой, а скопление клеток (рис.1).

Рост и деление клеток приводят к потоку клеток из ЦЗ в ПЗ и ОЦ, и далее по корпусу АМП. Однако, несмотря на такой поток клеток, положения зон относительно верхушки АМП остаются постоянными.

К настоящему времени у *A. thaliana* выявлен ряд генов, мутации которых приводят к изменению структуры АМП и ниши стволовых клеток в ней. Так, характерной особенностью клеток ЦЗ является экспрессия гена *CLV3*, а в клетках ОЦ наблюдается экспрессия гена *WUS* [5]. В клетках ОЦ и его ближайшего окружения наблюдается экспрессия генов *CLV1* и *CLV2*, продуктами которых являются субъединицы гетеродимерного рецепторного комплекса

CLV1/CLV2, локализованного на клеточной мембране [6, 7]. Показано, что образующийся в результате процессинга белка CLV3 короткий пептид выходит из клетки, связывается с CLV1/CLV2 в клетках вокруг ОЦ, и подавляет в этих клетках экспрессию гена *WUS*, а ген *WUS* в свою очередь активирует экспрессию гена *CLV3* [6, 8, 9, 10].

Считается, что продукты экспрессии некоторых генов могут диффундировать между клетками АМП и регулировать экспрессию других генов [10-12].

Несмотря на приведенные выше данные, вопрос о механизме регуляции пространственной структуры ниши стволовых клеток в апикальной меристеме побега растения остается открытым. Для изучения этого вопроса мы построили математическую модель типа «реакция-диффузия», основанную на формализации имеющихся экспериментальных данных и гипотезах:

1. Имеется ген *Y*, экспрессия которого разрешена только в слое L1. Продукт экспрессии этого гена (белок *Y*) диффундирует по АМП с одновременным распадом, в результате чего устанавливается некоторое стационарное неоднородное распределение его концентрации.

2. Экспрессия генов *CLV3* и *WUS* активируется белком *Y*. При этом порог активации для *CLV3* выше, чем для *WUS*. В результате этого нижняя граница зоны экспрессии гена *CLV3* располагается ближе к верхушке АМП (к слою L1), чем нижняя граница зоны экспрессии *WUS*.

3. Белковый продукт гена *WUS* диффундирует от ОЦ, в том числе - к верхушке АМП, где он активирует экспрессию гена *Y*. Кроме того, белок *WUS* активирует экспрессию генов *CLV1* и *CLV2*. Белки CLV1 и CLV2 образуют комплекс CLV1/CLV2 на поверхности клеток, в которых они синтезируются [6, 8, 9, 11].

4. Пептид pCLV3, производный от белка CLV3, распространяются по внешним слоям АМП быстрее, чем по корпусу. Этот пептид необратимо связывается с рецептором комплексом CLV1/CLV2 [8, 9, 11].

5. После связывания пептида pCLV3 с рецептором CLV1/CLV2 запускается путь передачи сигнала, подавляющий экспрессию *WUS* в этих клетках [13].

6. Комплекс CLV1/2+CLV3 поглощается клетками и деградирует. В результате этого концентрация CLV3 уменьшается, и внутри АМП возникает зона ОЦ, свободная от него, где и наблюдается экспрессия гена *WUS* [7, 13].

На рис. 1 показан продольный срез АМП, геометрически подобный реальным изображениям продольного среза АМП. Клеточная структура этого среза получена стандартной процедурой по методу разбиения Вороного. На рисунке показано также графическое представление описанного выше механизма регуляции пространственной структуры ниши стволовых клеток, спроецированное на эту структуру.

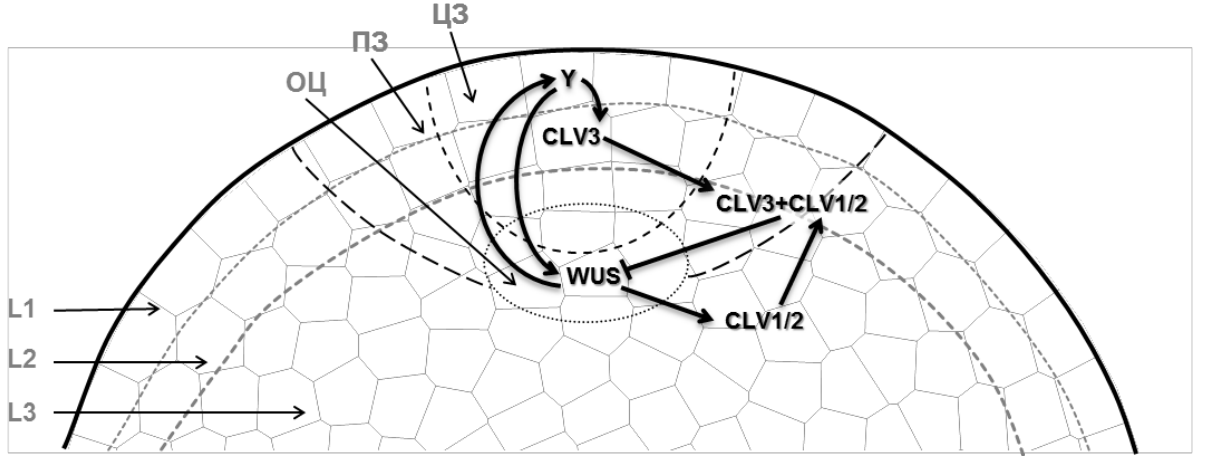


Рис. 1. Графическое представление процессов регуляции структуры ниши стволовых клеток, описанных в модели, на продольном срезе АМП *A. thaliana*: ген *WUS* активирует ген *CLV3* опосредованно, через ген *Y*. Здесь L1 – наружный слой клеток, L2 – второй слой клеток, L3 – клетки корпуса, ЦЗ – центральная зона (граница обозначена коротким пунктиром), – маркирована экспрессией гена *CLV3*, ОЦ – организационный центр (граница обозначена точками), – маркирован экспрессией гена *WUS*, ПЗ – периферическая зона (граница обозначена длинным пунктиром).

На описанном выше представлении продольного среза АМП была построена динамическая модель пространственно-распределенного механизма регуляции с сосредоточенными параметрами в точках i , соответствующих клеткам области. Модель представлена в виде системы обыкновенных дифференциальных уравнений:

$$\frac{dy_i}{dt} = \frac{\beta_y}{V_i} \sum_{j \in \varepsilon(i)} S_{ij} (y_j - y_i) + v_y I_Y^i \mathbf{g}(h_y + T_{yw} w_i) - d_y y_i \quad (1)$$

$$\frac{dc_i}{dt} = \frac{\beta_c}{V_i} \sum_{j \in \varepsilon(i)} S_{ij} (c_j - c_i) + v_c \mathbf{g}(h_c + T_{cy} y_i) - d_c c_i - \alpha c_i z_i + \beta u_i \quad (2)$$

$$\frac{dw_i}{dt} = \frac{\beta_w}{V_i} \sum_{j \in \varepsilon(i)} S_{ij} (w_j - w_i) + v_w \mathbf{g}(h_w + T_{wy} y_i + T_{wu} u_i) - d_w w_i \quad (3)$$

$$\frac{dz_i}{dt} = v_z \mathbf{g}(h_z + T_{zw} w_i) - d_z z_i - \alpha c_i z_i + \beta u_i \quad (4)$$

$$\frac{du_i}{dt} = \alpha c_i z_i - \beta u_i - \gamma u_i, \quad (5)$$

где y , c , w – концентрации белков *Y*, *CLV3*, *WUS*; z и u – концентрации гетеродимерного рецептора *CVL1/2* и комплекса *CLV1/2+CLV3*, соответственно. β_y , β_c , β_w – коэффициенты проницаемости межклеточных границ для веществ y , c , w . V_i – объем i -й клетки (двумерной), S_{ij} – площадь границы (одномерной) между i -й и j -й клетками. v_y , v_c , v_w – максимальные скорости синтеза веществ y , c , w ; d_y , d_c , d_w – коэффициенты распада веществ y , c , w .

α - коэффициент скорости образования вещества u . I_Y^i - индексная функция; $I_Y^i = 1$ для клеток, находящихся на границе клеточного ансамбля, $I_Y^i = 0$ для остальных клеток. Суммирование производится по всем клеткам j , которые являются соседними с клеткой i ($j \in \epsilon(i)$).

Регуляция экспрессии генов y , c , w и z описывается в модели сигмоидной функцией

$$g(X) = \frac{1}{2} \left(1 + \frac{X}{\sqrt{1+X^2}} \right),$$

где аргумент X вычисляется для каждого гена следующим образом: $X = h_y + T_{yw}w$ для гена Y ; $X = h_c + T_{cy}c$ для гена C ; $X = h_z + T_{zw}w$ для гена Z ; $X = h_w + T_{wy}y + T_{wu}u$ для гена W . Здесь T_{pq} – коэффициенты регуляции скорости синтеза вещества p веществом q , а h_p определяют базовые скорости синтеза вещества p .

Для проведения вычислительных экспериментов с моделью использовали пакет Cellzilla [<http://computableplant.caltech.edu/~bshapiro/Cellzilla/html/index.html>], предназначенный для численного моделирования клеточных систем с процессами типа «реакция-диффузия».

Коэффициенты распада d_y , d_c , d_w и d_z и максимальных скоростей синтеза веществ v_y , v_c , v_w и v_z в результате обезразмеривания системы были приведены к единице. Определение остальных параметров модели осуществлялось следующим образом.

(1) Были заданы 4 клетки-источника Y в слое L1 на верхушке АМП, а также клетки-источники WUS в ОЦ (рис. 1). Первое приближение параметров β_y и β_w находили, решая уравнение (1) и (3) при соблюдении следующих условий: концентрация Y должна быть близка к нулю на границе АМП, а концентрация WUS в клетках-источниках Y должна составлять не ниже трети от ее максимального значения в ОЦ.

(2) Полученное стационарное решение для распределения концентрации Y по клеткам использовали для нахождения параметров h_c и T_{cy} из условия, что максимум синтеза $CLV3$ находится в первых двух слоях на верхушке АМП, расположенной в ЦЗ, и резко затухает в соседних клетках.

(3) Параметры β_c подбирали из условия, чтобы концентрация $CLV3$ в результате диффузии и дегградации становилась близкой к нулю в клетках ниже ОЦ вдоль продольной оси АМП (при определенных ранее параметрах h_c и T_{cy}).

(4) Параметры h_z и T_{zw} находили из условия, что стационарная концентрация рецептора $CVL1/CVL2$ в клетках на верхушке АМП (в ЦЗ) в результате синтеза и дегградации составляет треть от максимума в ОЦ.

(5) полученные на предыдущих этапах решения использовали для нахождения параметров h_w T_{wy} T_{wu} h_y T_{yw} из условий, что максимум синтеза WUS находился в ОЦ, а максимум синтеза Y - в 4-х клетках на верхушке АМП в слое L1 (таким способом мы убираем введенную в первом пункте принудительную фиксацию областей экспрессии генов Y и WUS).

(6) Далее найденные приближенные значения параметров подставляли в уравнения, решали полную систему и уточняли значения всех вышеперечисленных и оставшихся параметров по критерию схожести стационарного решения с наблюдаемыми распределениями экспрессии *CLV3* и *WUS* соответственно на верхушке АМП и в ОЦ.

В результате были подобраны параметры, при которых стационарное решение для распределения экспрессии генов *CLV3* и *WUS* в АМП качественно согласуется с экспериментально наблюдаемым [5]. На рис. 2 черные клетки соответствуют максимуму экспрессии гена *WUS* на продольном срезе АМП, рассчитанным на основе модели. Из рис. 2 видно, что при выбранных параметрах модели экспрессия *WUS* имеет резкий максимум в ограниченном количестве клеток, и равна нулю в клетках вокруг них. Пунктиром (рис. 2) показана экспериментально наблюдающаяся [5] локализация сигнала флуоресценции GFP под контролем промотора *WUS*, *хорошо согласующаяся с результатами расчетов*. Несмотря на то, что активатором экспрессии *WUS* является вещество Y, концентрация которого в клетках верхушки АМП достигает максимума, экспрессия *WUS* там подавляется высокой концентрацией комплекса *CLV1/2+CLV3* (в модели – переменная *u*).

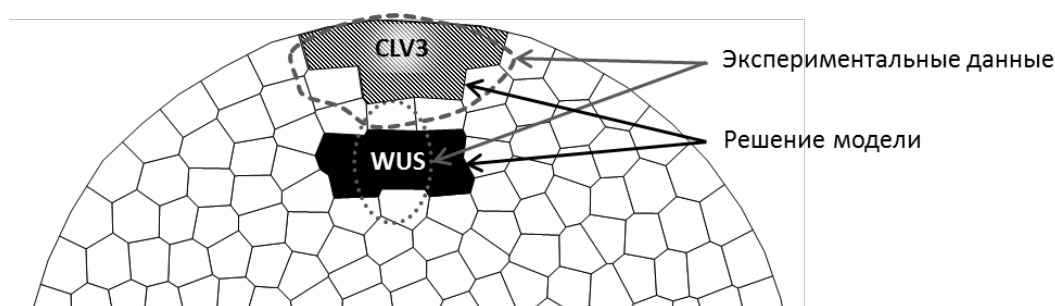


Рис. 2. Стационарное решение модели для распределения экспрессии гена *WUS* (чёрные клетки) и гена *CLV3* (заштрихованные клетки) представлено на продольном срезе АМП. Для сравнения обозначена область наблюдаемого сигнала флуоресценции GFP под промотором гена *WUS* (серыми точками) и гена *CLV3* (серым пунктиром) (рисунок 1E и 1D работы [5])

Максимум экспрессии гена *CLV3*, согласно результатам расчетов, находится на верхушке АМП, и локализован в клетках, входящих в ЦЗ (рис. 2). При выбранных параметрах модели экспрессия гена *CLV3* локализуется в тех же клетках, где экспериментально наблюдается максимум сигнала флуоресценции GFP под контролем промотора *CLV3* [5] (рис. 2).

Для изучения устойчивости предложенного механизма регуляции структуры ниши стволовых клеток к процессу их деления, вызывающему случайное отклонение величин концентраций рассматриваемых в модели веществ, мы случайным образом (по нормальному

распределению) отклоняли в пределах 20% переменные модели от их стационарных значений во всех клетках и изучали динамику положения максимумов экспрессии генов *CLV3* и *WUS*. Было проведено 100 вычислительных экспериментов, и во всех случаях мы наблюдали возвращение максимумов экспрессии генов *CLV3* и *WUS* к их исходным стационарным положениям. Таким образом, показано, что предложенный механизм взаимной регуляции генов *CLV1/2*, *CLV3*, *WUS* и *Y* способен устойчиво поддерживать пространственный паттерн экспрессии этих генов, характерной для ниши стволовых клеток в АМП [5]. Кроме того, найденное решение модели показывает, что предложенный в [7] (и формализованный в нашей модели) механизм изоляции ОЦ от *CLV3*, действительно может обеспечить в ОЦ зону с низкой концентрацией *CLV3*, что является необходимым условием для экспрессии гена *WUS* [5].

Ключевыми элементами предложенной нами модели регуляции структуры ниши стволовых клеток в АМП являются: (а) петля положительной обратной связи между клетками верхушки АМП и ОЦ, которая обеспечивается взаимодействием генов *Y* и *WUS*, и, как показано в работе [15], удерживает ОЦ на фиксированном расстоянии от верхушки АМП; (б) активация экспрессии *CLV3* сигналом *Y*, распространяющимся сверху, обеспечивающая правильное пространственное распределение экспрессии *CLV3* (рис. 3); (в) взаимосогласованность регуляторных взаимодействий, т.к. для получения устойчивого к возмущениям стационарного решения модели (пространственного распределения экспрессии взаимодействующих генов, соответствующего экспериментальным данным) мы не фиксируем принудительно никакую из областей экспрессии генов.

Для устойчивости к возмущениям стационарного решения (пространственного паттерна экспрессии рассматриваемых генов, наблюдаемого в АМП) мы накладываем лишь одно ограничение: ген *Y* может экспрессироваться только во внешнем слое клеток АМП, что оправдывается особой ролью этого слоя [14].

Остальные гены, рассматриваемые в модели, могут экспрессироваться во всех клетках АМП. Поддержание характерного для АМП пространственного паттерна экспрессии всех генов обеспечивается взаимной регуляцией их активности посредством рассматриваемых в модели механизмов регуляции – в этом смысл «замкнутости» модели. При этом представленные в модели молекулярно-биологические механизмы, обеспечивающие такую регуляцию, могут уточняться и изменяться при появлении новых экспериментальных фактов.

Например, недавно опубликованы данные [10], согласно которым ген *WUS* непосредственно активирует экспрессию гена *CLV3*, что ранее предполагалось на основе наблюдений за мутантами по этим генам [5-7]. Однако следует отметить, что если бы ген *CLV3* активировался сигналом, распространяющимся из ОЦ, то максимум его экспрессии наблюдался

бы в ОЦ, что не соответствует экспериментально наблюдаемому максимуму на верхушке АМП [5]. Поскольку такое положение максимума можно получить только при условии, что сигнал активации экспрессии распространяется от верхушки АМП (в нашей модели это Y), в моделях, основанных на непосредственной активации $WUS \Rightarrow CLV3$, для получения правильного паттерна экспрессии авторы работ [10, 12] были вынуждены включать дополнительную активацию экспрессии $CLV3$ сигналом, распространяющимся от верхушки АМП [10, 12]. Фактически, в работах [10, 12] речь идет о необходимости некоторого регуляторного сигнала, аналогичного рассмотренному в нашей модели сигналу Y. Это еще раз свидетельствует о том, что регуляторные отношения между клетками верхушки АМП, ОЦ и ЦЗ, реализованные в нашей модели, составляют важный контур распределенной системы регуляции.

Авторы выражают благодарность сотрудникам ИЦиГ СО РАН Подколотному Н.Л., Омелянчук Н.А., к.б.н. Катохину А.В., а также д.б.н. проф. МГУ Чубу В.В. за весьма полезное обсуждение работы.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №11-04-01748-а.

Институт цитологии и генетики СО РАН,
г. Новосибирск

Николаев Сергей Васильевич, 630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева
10, ИЦиГ СО РАН, (383)3634924, email: nikolaev@bionet.nsc.ru

Зубаирова Ульяна Станиславовна, 630090, г. Новосибирск, пр.
Лаврентьева 10, ИЦиГ СО РАН, (383)3634924, email:
ulyanochka@bionet.nsc.ru

Пененко Алексей Владимирович, 630090, г. Новосибирск, пр.
Лаврентьева 6, ИВМиМГ СО РАН, (383)3306152, email:
a.penenko@gmail.com

Eric D. Mjolsness Department of Computer Science, University of California,
Irvine, California, 92697, email: emj@uci.edu, web: <http://emj.ics.uci.edu>,
phone: 949 824 3533, fax: 949 824 4056

Bruce E. Shapiro Department of Mathematics, Mail Code 8313, California State University, Northridge, 18111 Nordhoff Street, Northridge, CA 91330-8313, email: bruce.e.shapiro@gmail.com, phone: 818-730-8176

Колчанов Николай Александрович, 630090, г. Новосибирск, пр. Лаврентьева 10, ИЦиГ СО РАН, (383)3634980, email: kol@bionet.nsc.ru

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ: 630090, Новосибирск, Лаврентьева 10, ИЦиГ СО РАН

АВТОР ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ: Николаев Сергей Васильевич nikolaev@bionet.nsc.ru

Список использованной литературы:

- [1] Чуб В.В., Синюшин А.А. // Физиология растений. 2012. Т. 59. № 4. С. 1–17.
- [2] Sharma V.K., Carles C., Fletcher J.C. // PNAS. 2003. V. 100. Suppl. 1. P. 11823–11829.
- [3] Gross-Hardt R., Laux T. // Journal of Cell Science. 2003. V. 116. P. 1659–1666.
- [4] Kwiatkowska D. // Am. J. Bot. 2004. V. 91 P. 1277–1293.
- [5] Yadav R.K., Girke T., Pasala S., Xie M., Reddy G.V. // PNAS. 2009. V. 106 P. 4941–4946. [6] Schoof H., Lenhard M., Haecker A., Mayer K.F., Jurgens G., Laux T. // Cell. 2000. V. 100 P. 635–644.
- [7] Williams L., Fletcher J.C. // Curr Opin Plant Biol. 2005. V. 8. P. 582–586
- [8] Ogawa M., Shinohara H., Sakagami Y., Matsubayashi Y. // Science. 2008. V. 319. P. 294.
- [9] Rojo E., Sharma V.K., Kovaleva V., Raikhel N.V., Fletcher J.C. // Plant Cell. 2002. V. 14. P. 969–977.
- [10] Yadav R.K., Perales M., Gruel J., Girke T., Jonsson H., Reddy G.V. // Genes and Development. 2011. V. 25. P. 2025–2030.
- [11] Николаев С.В., Пененко А.В., Лавреха В.В., Мелснесс Э., Колчанов Н.А. // Онтогенез. 2007. Т. 38. № 6. С. 457–462.
- [12] Hohm T., Zitzler E., Simon R. // PLoS One. 2010. V. 5. P. E9189.
- [13] Lenhard M., Laux T // Development. 2003. V. 130. P. 3163–3173.
- [14] Savaldi-Goldstein S., Chory J. // Curr Opin Plant Biol. 2008 February ; 11(1): 42–48
- [15] Николаев С.В., Колчанов Н.А. Фадеев С.И., Когай В., Мйолснесс Э. // Вычислительные технологии. 2006. Т. 11. № 2. С. 67–81.

Model of structure regulation of stem cell niche in shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana*

*S.V. Nikolaev¹, U.S. Zubairova¹, A.V. Penenko²,
E. D. Mjolsness³, B. E. Shapiro⁴, and academician N.A. Kolchanov^{1,5,6}*

¹Institute of Cytology and Genetics SB RAS, Novosibirsk, Russia

²Institute of Computational Mathematics and Mathematical Geophysics SB RAS, Novosibirsk, Russia

³Department of Computer Science, University of California, Irvine, California, USA

⁴Department of Mathematics, California State University, Northridge, USA

⁵Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

⁶National Research Centre "Kurchatov Institute", Moscow, Russia

Model of Structuring the Stem Cell Niche in Shoot Apical Meristem of *Arabidopsis thaliana*

S. V. Nikolaev^a, U. S. Zubairova^a, A. V. Penenko^b, E. D. Mjolsness^c, B. E. Shapiro^d,
and Academician N. A. Kolchanov^{a, e, f}

@

DOI: 10.1134/S0012496613050104

The shoot apical meristem (SAM) is a structure that is very important for plant growth [1, 2]. The following areas are distinguished in SAM [3, 4]. (1) The central zone (CZ) consists of a tapered cell accumulation where six to eight cells are found on SAM surface and one or two cells occur at a depth of three or four cells from the apex. CZ is formed by the stem cells and all the cells of a shoot originate from these cells. (2) The peripheral zone (PZ) is a CZ-surrounding ring structure formed by cells that originate from the dividing CZ cells. (3) The organizing center (OC) is a cell accumulation (two or three cells in depth and three or four cells in diameter) that is located directly under CZ. In addition, the following cell layers are distinguishable in SAM: L1 is the external cell layer; L2 is the second cell layer; L3 is referred to as the third layer (body), although, to be more exact, it is a cell accumulation rather than a layer, because cell division below the second layer occurs in all planes (Fig. 1).

Because of cell growth and division, a flow of cells from CZ to PZ, OC and then along the SAM body takes place. Nevertheless, the positions of various zones relative to the SAM apex remain unchanged.

A series of genes has been identified in *A. thaliana* whose mutations lead to changes in SAM structure

and the stem cell niche. *CLV3* and *WUS* genes are normally expressed in cells of CZ and OC, respectively [5]. The *CLV1* and *CLV2* genes encoding the subunits of a heterodimeric receptor complex CLV1/CLV2 located on the cell membrane are expressed in OC and the nearest cells [6, 7]. Processing of CLV3 protein yields a short peptide that appears outside the cells to bind CLV1/CLV2 in OC-surrounding cells and inhibit the expression of the *WUS* gene in these cells. The *WUS* gene activates the expression of the *CLV3* gene [6, 8–10].

The products of some genes are believed to diffuse through the intercellular medium of SAM and regulate the expression of other genes [10–12].

The open question is that of interaction between different components of the mechanism that controls spatial structure of the stem cell niche in the shoot apical meristem of a plant. We have suggested the reaction–diffusion mathematical model that is based on formalization of both the experimental data and hypotheses available.

(1) Suppose that the expression of a given *Y* gene is allowed only in the L1 layer. The product of this gene (protein Y) diffuses over SAM and decays simultaneously. Because of this, a stable heterogeneous concentration profile of this protein is reached.

(2) Protein Y activates the expression of the *CLV3* and *WUS* genes. The threshold of *CLV3* activation is higher than that of *WUS* activation. As a result, the lower boundary of the area of the *CLV3* gene expression is closer to the SAM apex (to L1 layer) than that of the area of *WUS* expression.

(3) Along with diffusion from OC in various directions, the *WUS* gene product diffuses to the SAM apex, where it activates expression of the *Y* gene. In addition, the *WUS* protein activates the expression of the *CLV1* and *CLV2* genes. The proteins CLV1 and CLV2 consti-

^a Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

^b Institute of Computational Mathematics and Mathematical Geophysics, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

^c Department of Computer Science, University of California, Irvine, California, United States

^d Department of Mathematics, California State University, Northridge, United States

^e Novosibirsk State University, Novosibirsk, Russia

^f Kurchatov Institute National Research Centre, Moscow, Russia

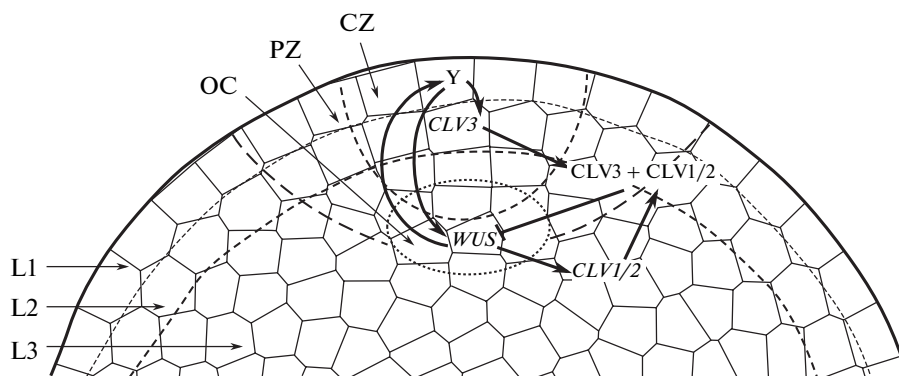


Fig. 1. Graphic representation of the regulatory processes for the structuring the stem cell niche as superimposed on the longitudinal section of *A. thaliana* SAM: *WUS* gene activates *CLV3* gene indirectly via *Y* gene. Here L1 is the external cell layer; L2, the second cell layer; L3, body cells; CZ, central zone (the short-dashed line denotes the boundary) is marked by expression of *CLV3* gene; OC, organizing center (dots denote the boundary) is marked by expression of *WUS* gene; PZ, peripheral zone (the long-dashed line denote the boundary).

tute a CLV1/CLV2 complex on the surface of cells that synthesize these proteins [6, 8, 9, 11].

(4) The pCLV3 peptide diffuses within the external layers more rapidly than along the body of SAM. This peptide binds irreversibly to the receptor complex CLV1/CLV2 on the cell surface [8, 9, 11].

(5) Binding the peptide δ CLV3 to the CLV1/CLV2 receptor leads to inhibition of *WUS* expression [13].

(6) The CLV1/2+CLV3 complex is absorbed by the cells where it decays. As a result, the CLV3 concentration decreases, and the OC zone free of CLV1/2+CLV3 appears within SAM, where the expression of *WUS* is observed [7, 13].

To obtain a longitudinal SAM section with a cell structure similar to real images of SAM section (Fig. 1), we used Voronoi's method of dividing the space. The graphic representation of the above regulatory mechanism is projected to this structure.

This geometric model of the longitudinal SAM section was used to develop a dynamic model of the spatially distributed regulatory mechanism with parameters concentrated in i points corresponding to cells of the area. The model is presented as a system of ordinary differential equations:

$$\frac{dy_i}{dt} = \frac{\beta_y}{V_i} \sum_{j \in \varepsilon(i)} S_{ij}(y_i - y_j) + v_y I_Y^i g(h_y + T_{yw} w_i) - d_y y_i,$$

$$\frac{dc_i}{dt} = \frac{\beta_c}{V_i} \sum_{j \in \varepsilon(i)} S_{ij}(c_i - c_j) + v_c g(h_c + T_{cy} y_i) - d_c c_i - \alpha c_i z_i + \beta u_i,$$

$$\frac{dw_i}{dt} = \frac{\beta_w}{V_i} \sum_{j \in \varepsilon(i)} S_{ij}(w_i - w_j) + v_w g(h_w + T_{wy} y_i + T_{wu} u_i) - d_w w_i,$$

$$\frac{dz_i}{dt} = v_z g(h_z + T_{zw} w_i) - d_z z_i - \alpha c_i z_i + \beta u_i,$$

$$\frac{du_i}{dt} = \alpha c_i z_i - \beta u_i - \gamma u_i,$$

where y , c , and w are the concentrations of proteins *Y*, CLV3, and *WUS*, respectively; z and u are the concentrations of the heterodimeric CLV1/2 receptor and the CLV1/2+CLV3 complex, respectively. β_y , β_c , and β_w are the permeability coefficients of the intercellular boundaries for the substances y , c , and w ; V_i is the volume of an i cell (two-dimensional); S_{ij} is the square of boundary (one-dimensional) between the i and j cells. v_y , v_c , and v_w are the maximum rates of syntheses of the substances y , c , and w ; d_y , d_c , and d_w are the disintegration coefficients of the substances y , c , and w . α is the coefficient of velocity of the substance u formation; I_Y^i is the index function; $I_Y^i = 1$ for the cells that are at the boundary of a cell ensemble; $I_Y^i = 0$ for the rest of the cells. Summation is made for all j cells that are neighboring the i cell ($j \in \varepsilon(i)$).

Expression of the genes y , c , w and z is regulated, in this model, as described by a sigmoid function:

$$g(X) = \frac{1}{2} \left(1 + \frac{X}{\sqrt{1 + X^2}} \right),$$

where the X argument is calculated as follows:

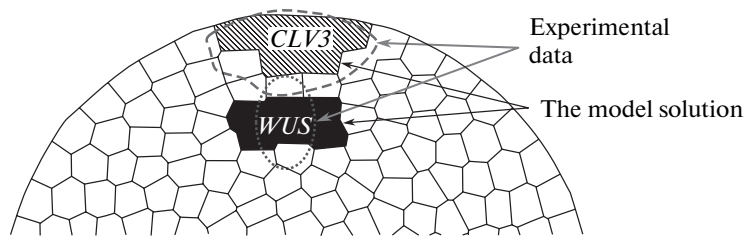


Fig. 2. A stationary solution for the model of *WUS* and *CLV3* gene expression (black and hatched squares, respectively) as distributed over the longitudinal SAM section. For comparison see the areas of the observed GFP signal fluorescence under the promoters of *WUS* and *CLV3* genes (grey dots and grey dashed line, respectively) (adapted from [5]).

$$X = \begin{cases} h_y + T_{yw}w & \text{for the } X \text{ gene,} \\ h_c + T_{cy}y & \text{for the } C \text{ gene,} \\ h_z + T_{zw}w & \text{for the } Z \text{ gene,} \\ h_w + T_{wy}y + T_{wu}u & \text{for the } W \text{ gene.} \end{cases}$$

T_{pq} is the coefficient that reflects the effect of q substance on the rate of p synthesis; h_p determines the basic rates of p synthesis.

The Cellzilla software package was used for the computational experiments with the model [http://computableplant.caltech.edu/~bshapiro/Cellzilla/html/index.html].

The parameters selected using the developed algorithm and a stationary solution (Fig. 2) for the distribution of *CLV3* and *WUS* gene products in SAM was obtained by the time set method; this solution proved to be in qualitative accordance with that experimentally observed [5].

Growth and division of SAM cells is known to be accompanied by changes in the topology of tissue cells, because of which the concentration profile of the regulatory molecules may vary. To evaluate the stability of the proposed regulatory mechanism, we changed the steady-state concentrations by a random value within a range of 20% of the steady-state level in order to observe subsequent dynamics of the system. In 100 computational experiments, relaxation of the perturbed states to the stationary values was observed.

Thus, we have demonstrated that the proposed mechanism of reciprocal regulation of *CLV1/2*, *CLV3*, *WUS* and *Y* genes was capable of stable maintaining the spatial pattern of these gene expression, which is characteristic of the stem cell niche in SAM.

The main elements of our model of the stem cell niche regulation in SAM are the following: (a) the positive feedback loop between SAM apex cells and OC, which is ensured by interaction of *Y* and *WUS* genes and, as reported in [15], holds OC at a certain distance from the SAM apex; (b) activation of *CLV3* expres-

sion by *Y* signal spreading from the SAM apex results in a proper spatial distribution of *CLV3* expression; (c) a closed pattern of the model, i.e., to obtain the perturbation-resistant stationary solution, we impose one restriction: *Y* gene is expressed only in L1 cell layer, which is justified by a particular role of this layer [14].

In a recent report [10], the *WUS* gene has been demonstrated to activate the *CLV3* gene directly, which has been earlier suggested from the data on *WUS* mutants [5–7]. Note that, in the models based on direct *WUS* → *CLV3* activation, an additional activation of *CLV3* expression by a signal transmitted from SAM apex (an analogue of the *Y* gene in our model) has been included [10, 12] to obtain the correct expression pattern.

This indicates that the regulatory relationships between the cells of the SAM apex, OC, and CZ described in our model form an important loop of the distributed system of regulation.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the researchers of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Division, Russian Academy of Sciences N.L. Podkolodnyi, N.A. Omel'yan-chuk, and A.V. Katokhin, Cand. Biol. Sci., as well as to V.V. Chub, Dr. Biol. Sci., professor of Moscow State University, for useful discussion of our study.

This study was partly supported by the Russian Foundation for Basic Research, project no. 11-04-01748-а.

REFERENCES

1. Chub, V.V. and Sinyushin, A.A., *Fiziol. Rast.*, 2012, vol. 59, no. 4, pp. 1–17.
2. Sharma, V.K., Carles, C., and Fletcher, J.C., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 2003, vol. 100, suppl. 1, pp. 11823–11829.
3. Gross-Hardt, R. and Laux, T., *J. Cell Sci.*, 2003, vol. 116, pp. 1659–1666.
4. Kwiatkowska, D., *Am. J. Bot.*, 2004, vol. 91, pp. 1277–1293.

5. Yadav, R.K., Girke, T., Pasala, S., Xie, M., and Reddy, G.V., *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.*, 2009, vol. 106, pp. 4941–4946.
6. Schoof, H., Lenhard, M., Haecker, A., Mayer, K.F., Jurgens, G., and Laux, T., *Cell*, 2000, vol. 100, pp. 635–644.
7. Williams, L. and Fletcher, J.C., *Curr Opin Plant Biol.*, 2005, vol. 8, pp. 582–586.
8. Ogawa, M., Shinohara, H., Sakagami, Y., and Matsubayashi, Y., *Science*, 2008, vol. 319, p. 294.
9. Rojo, E., Sharma, V.K., Kovaleva, V., Raikhel, N.V., and Fletcher, J.C., *Plant Cell*, 2002, vol. 14, pp. 969–977.
10. Yadav, R.K., Perales, M., Gruel, J., Girke, T., Jonsson, H., and Reddy, G.V., *Dev.*, 2011, vol. 25, pp. 2025–2030.
11. Nikolaev, S.V., Penenko, A.V., Lavrekha, V.V., Melness, E., and Kolchanov, N.A., *Ontogenez*, 2007, vol. 38, no. 6, pp. 457–462.
12. Hohm, T., Zitzler, E., and Simon, R., *PLoS One*, 2010, vol. 5, p. E9189.
13. Lenhard, M., Laux, T., *Development*, 2003, vol. 130, pp. 3163–3173.
14. Savaldi-Goldstein, S. and Chory, J., *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2008, vol. 11, no. 1, p. 11.
15. Nikolaev, S.V., Kolchanov, N.A., Fadeev, S.I., Kogai, V., and Miolsness, E., *Vych. Tekhnol.*, 2006, vol. 11, no. 2, pp. 67–81.

Translated by A. Nikolaeva

SPELL: OK